

| | |
|-------------|---|
| Title | 自由24 ヒトにユニークな塩基配列の網羅的探索(VI 共同 利用研究 2.研究成果) |
| Author(s) | 大西, 啓介; 植田, 信太郎 |
| Citation | 霊長類研究所年報 (2002), 32: 104-105 |
| Issue Date | 2002-08-27 |
| URL | http://hdl.handle.net/2433/165743 |
| Right | |
| Type | Departmental Bulletin Paper |
| Textversion | publisher |

| | | |
|--------------------|--------------------|-----|
| <i>Tupaia glis</i> | 0.38 x 0.38 x 0.50 | 100 |
|--------------------|--------------------|-----|

表中の解像度を示す3つの数字の単位はmmであり、それぞれ、x方向のピクセルサイズ、y方向のピクセルサイズ、スライス厚である。全ての画像は矢状断面で撮像され、サイズは512ピクセル×512ピクセルである。また、スライス厚とスライス間隔は等しい。

画質はいずれも良好で、全ての撮像データで喉頭軟骨を鮮明に観察可能である。また、小型の標本(*Glago crassicaudatus*, *Saimiri sciureus*, *Tupaia glis*)では、質量が小さいためにMR信号が弱く、画像のコントラストが弱まり、筋の同定は不可能であったが、それ以外の標本では舌筋、喉頭周辺の筋を同定することが可能であった。今後、更にデータを蓄積し、口腔形状と舌骨の位置に関する形態計測を実施する予定である。

自由22 霊長類MHCクラスI遺伝子群の重複および機能分化の過程の解明

颯田葉子(総研大学院大・先端科学)

新世界猿のクラスI遺伝子のゲノム塩基配列をヨザル、ケナガクモザル、フサオマキザルについて決定し、ヒトのクラスI遺伝子座の配列と比較した。従来マモセツ科のタマリンを材料に欧米諸国で行われてきた研究結果から、広鼻猿類にはヒトの古典的クラスI遺伝子座(HLA-A, B, C)にオーソログな遺伝子座は存在しないといわれてきた。しかし本研究で、ゲノム上の霊長類特異的な転移因子であるAlu因子をマーカーとしてオーソログ遺伝子座の探索と同定を行ったところ、ヨザル、ケナガクモザル、フサオマキザルのいずれにもHLA-B様の遺伝子座が複数存在していることがわかった。更に、これらの新世界猿から非古典的クラスI遺伝子座であるHLA-EおよびHLA-Gのオーソログを単離し、新世界猿古典的クラスIオーソログ、ヒトの古典的・非古典的クラスI遺伝子座の塩基配列とともに系統解析を行った。その結果、霊長類(真猿類)が現在有している多くの古典的・非古典的クラスI遺伝子座は広鼻猿類と狭鼻猿類・類人猿の分岐以前に既に分化していたことが明らかになった。(この結果に関しては現在投稿準備中)。さらにこれら新世界猿とヒトの5'上流域の転写制御因子の塩基配列を比較してみると、ヒトのHLA-G遺伝子座は広鼻猿類と狭鼻猿類・類人猿の分岐以後に特異的な変化を蓄積していることが明らかになった。

自由23 霊長類におけるプリン代謝関連酵素の欠損の生理学的意義と欠損機構の解明

尾田真子(総研大学院大・先端科学・生命体科学)

プリン代謝系の尿酸酸化酵素(Uox)は、ヒトを含む

類人猿で不活性化している。また、この遺伝子は重複を経ずに偽遺伝子化し、希有な進化過程を経たといえる。本研究では、霊長類の進化においてUoxが欠損した過程と、欠損を許容した生理生化学的機構について解明することを目的とした。

本年度は、Uoxの欠損過程を塩基配列決定及び比較解析により明らかにした。ヒトを含む9種の霊長類(humans, chimpanzees, gorillas, orangutans, gibbons, baboons, rhesus, crab-eating 及び owl monkeys)について、Uoxのcoding(915 bp), promoter(1.4 kb)及びintronの一部(1.4 kb)を調べ、次のような結果を得た。1) 霊長類で二度独立に起きた偽遺伝子化の機構は、CGA→TGAのnonsense mutationであった。これは、UoxのCGAコドンの使用頻度が、霊長類では高いことと関連していた。2) 観察された塩基置換から、偽遺伝子化の時期は、great apeは約1500万年前、gibbonは約1000万年前と推定された。3) ラットと霊長類のpromoter領域の塩基配列の比較から、霊長類では転写活性の低下が示唆された。以上から、霊長類におけるUox遺伝子の不活性化は、段階的に起こったと考えられた。

自由24 ヒトにユニークな塩基配列の網羅的探索

大西啓介・植田信太郎

(東京大・院理・生物科学)

ここ数十年間になされてきた研究により、大型類人猿のうち、ヒトに遺伝的に最も近縁な現生生物はチンパンジーであることが確実とされている。しかし、これはヒトや大型類人猿間の『相同』な遺伝子領域間の比較から得られたものであり、『相違』、つまりある類人猿のみに存在する遺伝子についてはほとんど分かっていない。そこで我々は、ヒトのみに存在する遺伝子領域がヒトの特異性に何らかの貢献を果たしているのではないかと考える下、ヒトに特異的な遺伝子領域を探索することを目的とし、ヒトとチンパンジーの全ゲノム間でsubtractive hybridizationを行った。この実験により得られたクローンの塩基配列を問い合わせ配列として、データベース上のヒトのドラフトシーケンスに対し、BLASTを用いて相同性検索を行った。そこで得られた、配列が完全に一致するBACクローンの塩基配列を用いて元のクローンの配列を両側から挟む形でプライマーをデザインし、ヒトと、チンパンジーを含む類人猿のgenomic DNAを鋳型としてPCR法で増幅し、塩基配列を決定した。その結果、subtractive hybridizationで得られた3つのクローンに相当する遺伝子領域において種間で『相違』が見られ、うち1つが、イントロン内のエキソンのすぐ近傍において、ヒトや類人猿の中で塩基配列が多様性に

富む遺伝子領域であることを発見した。

自由 25 移入タイワンザルの拡散過程と雑種化の研究

前川慎吾（開知中学校高等学校）

和歌山県下の移入タイワンザルの拡散過程を明らかにするため、県下全域に情報網を張り、適宜現地聞き込み調査を行った。以下に今年度に得たタイワンザル関係の情報の概要を記す。1. 日高郡龍神村においてタイワンザルらしきコザルの縊死体の目撃情報、現地調査実施。2.、有田郡金屋町にて混血雄成獣の射殺死体を回収（遺伝学的に混血の確認）。3. 東牟婁郡本宮町にて聞き込み調査。ニホンザル、タイワンザル、交雑個体の混在する群れの情報。また同郡熊野川町においても尾の長いサルの情報。4. 北山村にて、混血個体の目撃情報。5 日高郡龍神村よりタイワンザルの目撃情報、現地調査を行う。6. 有田郡清水町にて尾の長い個体の情報。

これまでに前川が得た情報を合わせて見ると、どうやら本拠地から高野山、奈良県への移動経路が概略明らかになった。付加する問題点として、これまで情報の無かった「アカゲザル」を見たという情報がある。もう 1 点の問題点は、環境庁の聞き取り調査では海草郡野上町、同美里町で複数個体のサルが目撃されていることである。この 2 点を早急に確認すべきである。

自由 26 種の保存を目的としたチンパンジー精子の凍結保存技術の確立

楠 比呂志（神戸大・農）

希少動物の種の保存において、生殖子の凍結保存技術は有力な補助手段であるが、ウシなどの一部の家畜を除けば再現性のある方法が確立しているとは言い難いのが現状である。そこで本研究では、再現性の高いチンパンジー精子の凍結保存技術を確立する目的で、京都大学霊長類研究所で飼育されている 2 頭の成熟雄から電気射精法で採取した精液を材料に用いて実験を行った。

細菌検査の結果、チンパンジーの精液中には、グラム陽性球菌、同双球菌、同桿菌などが常在することが判明したので、精子保存用希釈液に添加する抗生物質としては、アンピシリン系やカルベニシリン系のものが有効と考えられた。また、家畜や実験用のサルなどで使用されている TEST, HYG, モデナ, TTE, HF および Ham F 10 の 6 種類の精子保存用希釈液についてスクリーニングテストを行った結果、TTE に凍害防止剤として 2.5% v/v のグリセリンを添加したものが、チンパンジー精子に最適であることが知られた。また家畜では、凍結前の精子の冷却過程は、通常緩慢に行うが、チンパンジーでは

急速に行った方が融解後の精子の性状の回復は良好であった。さらに、精子の凍結・融解後の性状は、保存容器や凍結用冷媒に家畜で常用されているストローや液体窒素蒸気を用いた場合よりも、バイアルや粉末ドライアイスを用いた場合のほうが、良好であった。

自由 27 アフリカ産霊長類の多様化過程に関する集団遺伝学的研究

嶋田 誠（国立遺伝研）

ゲラダヒヒの ABO 血液型に関する研究

Theropithecus 属は化石資料によると過去にはアジア・アフリカに広く分布していたと考えられているが、現在はゲラダヒヒ (*Theropithecus gelada*) 1 属 1 種がエチオピアの高原地帯に分布しているのみである。これまで、ゲラダヒヒの ABO 血液型は充分には研究されておらず、飼育個体約 20 頭において、すべて O 型と記載されていた。この記載は、他の旧世界ザルでは O 型は稀であることを考慮すると、疑問であり、進化の過程で集団に固定したのか、限られた飼育個体の検査結果によるためであるのか、不明のままであった。そこで、京都大学霊長類研究所集団遺伝分野に保存されている、エチオピア 3 地点由来の血液標本をもちいて、ABO 遺伝子のエクソン 6 および 7 領域の塩基配列と、血清学的表現型を比較することによって、この疑問に迫る計画をした。現在までのところ、ABO 遺伝子の配列を決定したところ、O 型以外の表現型を示唆している。今後検体数を増やし、血清学的表現型の検査を加えて総合的に考察したい。

ミトコンドリア DNA 配列によるサバンナモンキー亜種分化の研究

2001 年度は、*C. a. aethiops* 亜種内の haplogroup 間の多様度は、亜種間の多様度に匹敵するのという結果を論文にまとめ、現在印刷中である。

自由 28 サルのストレス関与酵素系に関する基礎的研究

手塚修文（名古屋大・院・人間情報）

サルは生活環境・生活状況の違いにより、行動や精神的・肉体的体調に変化が見られる。これらの変化はストレス応答に関する酵素活性の制御・遺伝子の発現機構に直接・間接に関与していると思われる。2001 年度は、ニホンザルの肝臓に局在する活性酸素 (O_2^-) 生成酵素の一つである NAD(P)H 酸化酵素の活性制御機構を有機ゲルマニウム [$(GeCH_2CH_2COOH)_2O_3$] と関連させて解析した。この有機ゲルマニウムは、抗酸化・癌抑制・免疫調整・骨代謝調節・鎮痛抑制・抗炎症・血圧調節などの生理作用を持つことが知られている。我々はこの有機ゲルマニウ